



成人日本人に対する単回ペロ細胞由来日本脳炎ワクチン接種効果の検討

著者	竹下 望
学位授与機関	Tohoku University
URL	http://hdl.handle.net/10097/56011

博士論文

成人日本人に対する単回ペロ細胞由来日本脳炎ワクチン接種効果の検討

東北大学大学院医学系研究科医科学専攻

内科病態学講座 感染制御・検査診断学分野

竹下望

1. 要約

日本脳炎はかつて国内で毎年 1000 例以上の発症が報告されており、現在も予防接種法に基づいて、ワクチンの定期接種が行われている。諸外国では、日本脳炎ウイルス活動地域に渡航する場合に、渡航内容によっては日本脳炎ワクチンが推奨されており、国内でも日本脳炎ウイルス活動地域に渡航する人を中心に、追加接種を希望する人がいる。しかし、日本では、定期接種としてすでにワクチン接種が実施されているということと、発生数は大きく減少したものの依然日本脳炎ウイルス活動地域であるため、接種回数を含めて明確な方法が定まっていない。また、2009 年よりこれまでのマウス脳由来日本脳炎ワクチンからベロ細胞由来日本脳炎ワクチンに変更されたが、従来のワクチン接種者に対して、ベロ細胞由来日本脳炎ワクチンを接種した効果に関する報告は少ない。このような背景から、成人日本人に対するベロ細胞由来日本脳炎ワクチンを単回接種した際の効果について検討を行った。

2009 年 10 月より 2011 年 3 月までの期間にベロ細胞由来日本脳炎ワクチン接種が行われた 79 人（平均年齢 40.7 ± 9.4 歳）に対してワクチン接種前後で中和抗体を測定する前向き観察研究を施行した。男性は 54 人で全体の 68.4%であった。ワクチン接種前の抗体陽性率は 51.9%、ワクチン接種後陽性率は 93.7%、抗体陽転率は 86.8%であった。またワクチン接種前の幾何平均抗体価は 14.7、ワクチン接種後幾何平均抗体価は 70.1 であり、幾何平均抗体上昇比は 4.76 であった。ワクチン接種前抗体陽性群と陰性群における、年齢、性別、

接種記録、ワクチン接種歴について検討したところ、陰性群の年齢は 42.8 歳と陽性群 38.7 歳に比べて有意に高かった。ワクチン接種歴を記録で確認した群（接種あり群）、記録がないものの問診のみで確認した群（問診群）、接種記録なしおよび不明である群（不明群）の 3 群について検討したところ、接種前後の抗体陽性率、抗体陽転率、接種前後の幾何平均抗体価についていずれも有意差は認められず、年齢について接種あり群、問診群、不明群で 34.6 歳、39 歳、45.6 歳と有意差を認めた。以上より、25-39 歳（40 歳未満群）、40 歳以上群の 2 群間の検討をおこなったところ、年齢（32.6 歳、47.5 歳）、性別（男/女：27/38 人、27/41 人）、抗体陽転率（69.2%、96.0%）、接種前幾何平均抗体価（22.0、10.5）、接種後幾何平均抗体価（129、42.0）に関して有意差を認めた。接種前抗体陽性率（63.9%、41.9%）、接種後抗体陽性率（88.9%、97.7%）、幾何平均抗体上昇比（5.90、4.00）はいずれも有意差を認めなかった。

本研究の結果、ペロ細胞由来日本脳炎ワクチンを追加接種することで、一定の抗体上昇効果を得られることが分かった。40 歳以上群では 1 回の追加接種で抗体上昇の力価は低いものの抗体陽転化が高い割合で認められた。一方、40 歳未満群では、抗体上昇の力価は高いもの、陽転化は 40 歳以上群より低い傾向が認められた。40 歳未満群では、ワクチン接種歴を文書で確認された場合は 1 回の追加接種で 100%抗体陽転化が確認できたが、文書で確認できない場合は、55.6%の抗体陽転率であり、基礎接種からの実施を含めた複数回の接種が望まれる。

2. 研究背景

日本脳炎は日本脳炎ウイルスが主にコガタアカイエカによって媒介されるウイルス性疾患であり、ウイルス性脳炎の一つである。風土病として流行している地域は南アジアから東アジアとオセアニアの一部を含み、中国、インド、ベトナム、ネパールでは 1986 年以降に 10000 人を超える症例が報告されている（図 1）¹⁾。不顕性感染が多く、症状が認められるのは 25 から 1000 人に 1 人とされているため、実際の感染者の推定は難しいが、流行状況は媒介する蚊との曝露、抗体保有状況、ウイルス株の種類によると考えられている^{4) 5) 6)}。発症者の死亡率は約 20-30%、生存者の約 30-50%に障害を残すとされている^{4) 5) 6)}。治療方法是对症療法のみであり、ワクチンによる予防が有効であるため、日本を含めた一部日本脳炎ウイルス活動地域では定期予防接種として導入されている。World Health Organization (WHO) や米国における Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) は、日本脳炎ウイルス非活動地域から活動地域への渡航者に対して、渡航内容によって日本脳炎ワクチン接種が推奨されている^{4) 5)}。両推奨によると、①日本脳炎ウイルス活動地域に 1 か月以上渡航する場合、②都市部以外や日本脳炎への曝露するリスクが高い地域へ日本脳炎流行時期に渡航する場合の 1 か月未満の短期渡航、③現在アウトブレイクが報告されている地域への渡航、④日本脳炎ウイルス活動地域での渡航場所、時期、活動内容が決まっていない場合にワクチン接種が推奨されており、都市部のみの短期渡航者、流行時期以外の渡航については推奨されていない^{4) 5)}。日本脳

炎ウイルス非活動地域から活動地域への渡航者における日本脳炎発症者は 1973-2008 年までに 55 症例報告されており、2010 年にも 2 例報告されている⁷⁾^{8) 9)}。57 症例のうち 11 症例 (19.2%) が死亡しており、渡航者においても発病時の予後が不良であることが、頻度が少ないもののワクチンが推奨される背景となっている。以上より、日本渡航医学会のガイドラインでも、日本から他の日本脳炎ウイルス活動地域に渡航する際には、WHO や ACIP の推奨に準じた対象に日本脳炎ワクチン推奨が提唱されている。¹⁰⁾

しかしながら、WHO や ACIP の推奨に準じて日本からの他の日本脳炎ウイルス活動地域への渡航者にワクチン接種を施行することについて、2 つの考慮すべき点があると考えられる。第 1 に日本は現在も日本脳炎が報告されている日本脳炎ウイルス活動地域である。第 2 に日本脳炎に対して定期接種として小児期からワクチンによる予防対策を実施している。

日本は日本脳炎ウイルス活動地域であるものの、日本脳炎の発生件数は 1966 年以前では毎年 1000 例以上の報告があったが、1974 年以降には 100 例以下となり、1992 年以降は成人を含めて発症者の報告があるものの 10 例以下と著しく減少した (図 2)^{2) 3) 24)}。日本脳炎が著明に減少した理由としては、日本脳炎ワクチンの開始によって小児期に免疫を獲得したこと以外に、稲作などの農業技術の変化に伴う蚊の減少、養豚施設と居住環境の分離などが挙げられている^{3) 11)}。現在、日本国内での日本脳炎ウイルスの蔓延状況を調査するために、宿主であるブタにおける日本脳炎抗体保有状況と、ヒトにおける日本脳炎抗体保有状況の調査が感染症流行予測調査として実施されている。ブタにおける赤血

球凝集抑制法を用いた日本脳炎抗体保有状況調査では、2008 年の報告において 35 都道県で抗体陽性が確認され、24 県で抗体陽性率が 50%超、18 県で 80%超、2010 年の報告でも 17 県で 50%超とされており、中間宿主であるブタにおける感染は持続している^{12) 13)}。一方、人間における中和抗体保有状況ではワクチンによる影響があるものの、2008 年に実施された 3200 人において、生後 6 か月から 5 歳までが 15%を下回り、それ以降の年齢で上昇するものの、25-29 歳の群で 80%を下回り、徐々に低下して 40-49 歳の群が 20%以下まで低下して、その後上昇するものの、30-64 歳までが 50%を下回る³⁾。これは、2009 年、2010 年、2011 年における報告も同様で、25-29 歳の群で 80%を下回り、50-54 歳を下限として上昇に転じる結果となっている¹⁴⁾。

日本におけるもう一つの日本脳炎に関する特色である日本脳炎ワクチン接種に関する経緯であるが、日本脳炎ワクチンはマウス脳由来ウイルスによる不活化ワクチンが 1954 年に承認され、1954-1967 年が勧奨接種、1967-1976 年が特別対策、1976 年より定期接種として実施された。勧奨接種では若年層が対象であったが、特別対策では、12 歳までの幼児および小学校児童並びに 55 歳から 64 歳までが対象となった¹⁵⁾。定期接種では、月齢 6 か月以上が対象であるが、多くは 3 歳時に 1-4 週の間隔をあけて 2 回の接種と 1 年後の追加接種を含めた第 1 期、9-12 歳の追加接種となる第 2 期、14-15 歳の第 3 期となった。現在も定期接種が継続しているが、1995 年に集団接種から個別接種へと接種方式が変更とされている。なお、北海道では日本脳炎が発生していないため、定期接種が実施されていない。また、日本脳炎の流行株の分析によって、マウス脳由来

日本脳炎ワクチンのワクチン株が 1990 年に従来の中山株から北京株に変更されている。厚生労働省が地域保健事業報告の定期予防接種被接種者数と標準的な接種年齢期間の総人口を総務省統計局推計人口より 12 か月相当人口に推計した人口から算出した定期接種の接種率は、1995-2004 年において第 1 期 2 回の接種率は 80%台で、追加接種も 70%前後であった¹⁶⁾。

しかし、マウス脳由来日本脳炎ワクチン接種と急性散在性脳脊髄炎（Acute disseminated encephalomyelitis：ADEM）の関連性が 1/75000～1000000 以下の頻度ながら指摘されていたため、2005 年 5 月に日本脳炎ウイルスに対する定期接種の積極勧奨が中止されるに至った^{6) 7) 10) 25)}。このときに、第 3 期も終了となった。その後、マウス脳由来日本脳炎ワクチンは製造終了となり、2009 年にベロ細胞由来日本脳炎ワクチンが製造承認後、第 1 期から積極勧奨が再開された^{17) 39)}。ベロ細胞由来日本脳炎ワクチン市販後、マウス脳由来日本脳炎ワクチンは在庫が終了とともに切り替わった。

両ワクチンの製造方法における差異は、マウス脳由来日本脳炎ワクチン株はワクチン製造用ウイルス株をマウス脳に接種し、その中で増殖したウイルスをホルマリンで不活化、ショ糖密度勾配超遠心により精製し、ワクチン抗原としている。一方、ベロ細胞由来日本脳炎ワクチンはウイルス培養基材をベロ細胞へと変更している。両ワクチンにおける免疫原性の比較として、ベロ細胞由来日本脳炎ワクチンの免疫原性は 6-90 か月児の乳幼児に対して調査が行われており、マウス脳由来日本脳炎ワクチンと比較して優位性が報告されている¹⁷⁾
³⁸⁾。現在、国内でマウス脳由来日本脳炎ワクチンは製造されておらず、欧米で

は、すでに製品化されているベロ細胞由来日本脳炎ワクチンに変更され、追加接種にも同ワクチンが推奨および使用されており、マウス由来日本脳炎ワクチンによる接種歴がある対象に対しての単回接種効果の評価もおこなわれている^{21) 22) 23)}。しかし、このワクチンは本研究で使用されている日本国内で製造、認可されたベロ細胞由来日本脳炎ワクチンとは、水酸化アルミニウムをアジュバントとして使用している点異なる。

このような背景を踏まえ、本研究では成人日本人に対する単回ベロ細胞由来日本脳炎ワクチンにおける効果を検討する。さらに、ワクチン接種歴や自然感染との関連が考慮される年齢の臨床情報がワクチン効果に影響しうるかについても検討を加える。

3. 研究目的

日本脳炎ウイルス活動地域に渡航する成人日本人に対して、リスクに応じて日本脳炎ワクチン接種が推奨される。しかし、日本は以前より日本脳炎ウイルス活動地域で現在も少数ながら報告があり、1954 年より予防接種が開始されているという特徴がある。さらに、これまで使用されていたマウス脳由来日本脳炎ワクチンに代わり、2009 年よりベロ細胞由来日本脳炎ワクチンへとワクチンの種類が変更された。そこで、本研究では、日本人成人に対するベロ細胞由来日本脳炎ワクチンの単回接種に対する効果について検討する。また、ワクチン接種歴、年齢、性別等がベロ細胞由来日本脳炎ワクチンへ接種効果に影響を与えるかについても検討を行う。

4. 研究方法

1) 対象

2009 年 10 月～2011 年 3 月に日本脳炎ワクチン接種を希望した国立国際医療センター渡航者健康管理室の受診者から、上記研究に同意を得られた 113 人のうち、初回接種から 3-5 週後に採血を実施できた 94 人を抽出した。免疫抑制剤使用者 1 人とマウス脳由来日本脳炎ワクチンを接種した 7 人、中山株から北京株へと変更後に小児期のワクチン接種を受けたと想定される 20-24 歳の 7 人を除外した 79 人について、ベロ細胞由来日本脳炎ワクチン接種前後で中和抗体を測定し、前向き観察研究を実施した。

2) 中和抗体測定方法

採取した血清は、国立感染症研究所ウイルス第 1 部に移送し、凍結保存したのちに測定した。日本脳炎ウイルスの中和抗体測定法は、ウイルスにより形成されるプラークを指標とするプラーク法、ウイルスにより形成されるフォーカスを指標とするフォーカス法がある。プラーク法は、簡便ではあるが、日本脳炎ウイルスによる感染細胞の変性、崩壊によってプラーク形成されるため、約 1 週間の期間と多くのプレートが必要になり作業が煩雑となる。一方、フォーカス法は感染細胞内のウイルス抗原が蓄積されることで測定ができるため、約 46 時間で可能であり、96 穴プレートを用いるため、短時間に大量の検体を処理することができる。本研究は、フォーカスを観察するため、免疫酵素抗体法

を応用した Peroxidase anti-peroxidase (PAP) 法を用いたフォーカス計測法によって実施した^{26) 27) 34)}。

非働化した被検査血清 8 μ l を細胞培養液 72 μ l で 10 倍に希釈し続いて 2 倍階段希釈を行い、ウイルス (JEV Beijing-1) をウイルス力価試験の成績から計算した 100 FFU/25 μ l になるように希釈し、これを攻撃ウイルスとした。血清の各希釈液 40 μ l に攻撃ウイルスを等量 (40 μ l) 加え、プレートでプレートシェーカーで振とう混和し、37°C で 1 時間中和反応させた。ウイルスの接種と細胞固定は、ベロ細胞 (Osaka 株) を用いて作成した細胞プレートに、対照ウイルス、血清・ウイルス混和液のそれぞれを 25 μ l/well で接種し、接種直後に接種液が細胞全面に行渡るようにプレートシェーカーで振とうし、37°C、5% CO₂ 下で 1 時間ウイルスの吸着を行った。その間、15 分毎にウイルス液を細胞全面に行渡らせ、細胞培養液を 100 μ l/well 加え 37°C、5% CO₂ 下で 46 時間培養した。46 時間培養後、培養上清を除去しリン酸緩衝生理食塩水 (PBS; WAKO, Japan) で洗浄・除去後、99.5%のエタノールを 100 μ l/well 加え室温で 5 分間固定の工程を合計 2 回実施し、固定後エタノールを除去した。

PAP 複合体を用いたフォーカス計数法は、100 μ l の 20% エタノール-PBS で 1 回洗浄し、PBS で 10 分間 2 回洗浄後、一次抗体である抗日本脳炎ウイルスウサギ血清 [1 : 500 希釈 in PBS] を 100 μ l/well 加え振とう後 37°C、30 分間反応し、PBS で洗浄した。その後、二次抗体として抗ウサギヤギ血清 [1 : 500 希釈 in PBS] (MP Biomedical; Cappel, Irvine, CA, USA) を 100 μ l/well 加え振とう後 37°C、30 分間反応し、PBS で洗浄し、標識抗体として PAP ウサギ血清

複合体[1 : 1000 希釈 in PBS] (Dako、Glostrup、Denmark) を $100\mu\text{l/well}$ 加え振とう後 37°C 、30 分間反応し PBS で洗浄し、ペルオキシダーゼ反応を行うために基質液[40ml の PBS にベンチジンを 1 錠溶解し、 $9\%\text{H}_2\text{O}_2$ $50\mu\text{l}$ 添加 (H_2O_2 終濃度 0.01%) したもの] を $100\mu\text{l/well}$ 加え振とう後、室温で 5-30 分間反応させ、フォーカスが観察された時点でプレートを流水で洗浄し反応を停止し、プレートを風乾しフォーカスを計数した。

中和の判定はウイルス対照群のフォーカス数の平均値が 25-100 の間にある場合、検査は適性として、血清希釈のそれぞれのフォーカス減少率を求め、50%以上のフォーカス減少を示す最大希釈倍数を中和抗体価とした。日本脳炎ウイルス中和抗体価測定法による抗体価の陽性は 10 以上とした⁴⁾。

3) ワクチン接種方法および検体採取方法

対象者の血清はワクチン接種前とワクチン接種から 3-5 週後の 2 回採取し、両検体の中和抗体を測定した。対象者からは受診時に、過去の日本脳炎ワクチン接種歴を問診、母子手帳などの接種記録で確認した。ベロ細胞由来日本脳炎ワクチンはジェービック V[®] (阪大微研, Japan) を皮下注射として、 0.5ml 接種した。

4) ベロ細胞由来日本脳炎ワクチン単回接種による効果の解析

対象者に対して、ベロ細胞由来日本脳炎ワクチンを単回接種し、接種前後での解析を実施した。解析項目は、中和抗体陽性の割合として、接種前抗体陽性

率、接種後抗体陽性率、接種前抗体陰性であった対象者が接種後抗体陽性へと転じた抗体陽転率を検討した。また、接種前抗体陽性であった対象者に対してのブースター効果を検討するため、抗体価が 4 倍以上の上昇を示した数も併せて検討した。

また、本研究では、ワクチンによる抗体価の変化を検討するため、幾何平均抗体価 (Geometric mean titer: GMT) を接種前後で検討した。GMT の算出は、被験者数 n に対して、全員の力価 (X_n) の積の n 乗根を計算することによって得られる、被験者群の平均力価 ($\sqrt[n]{X_1 \times X_2 \times \dots \times X_n}$) によって求めた。また、抗体上昇率を検討するため、接種前後の抗体価上昇率の平均である幾何平均抗体上昇比 (Geometric mean fold rise: GMFR) も併せて検討した。

ワクチンの反応性に関連すると考えられる、年齢と接種歴に関してはそれぞれの関連性について検討を行った。接種歴は、ワクチン接種歴を文書によって確認できた群 (接種あり群)、ワクチン接種歴を問診のみで確認できた群 (問診群)、接種歴がないまたは不明であった群 (不明群) の 3 群間の比較を行った。年齢については、25-39 歳の群 (40 歳未満群)、40 歳以上の群 (40 歳以上群) における 2 群間における比較を行った。

5) 統計学的解析

得られたデータは STATA11 (StataCorp LP、Collage Station、Tx、USA) を用いて解析された。年齢は平均 (mean) \pm 標準偏差 (SD: standard deviation) で表記した。2 群間の検定では、年齢、接種前 GMT、接種後 GMT、

GMFR は Mann-Whitney 検定、性別、接種前抗体陽性率、接種後抗体陽性率、抗体陽転率、4 倍以上の抗体陽性率は Fisher 検定を用いた。3 群間の検定では、年齢、接種前 GMT、接種後 GMT、GMFR は Kruskal-Wallis 検定、性別、接種前抗体陽性率、接種後抗体陽性率、抗体陽転率、4 倍以上の抗体陽性率は χ^2 乗検定を用いた。接種前 GMT、接種後 GMT、GMFR については、95%信頼区間をあわせて算出した。両側検定における $p < 0.05$ をもって有意差があると判断した。

6) 倫理的配慮

本研究における、研究対象者の個人情報、国立国際医療研究センター個人情報保護方針（プライバシーポリシー）に基づき管理を行い、全研究内容について、国立国際医療研究センター倫理委員会の承認を得た。（承認番号 689）

5. 研究結果

1) 日本脳炎ワクチン接種前における日本脳炎抗体保有率および背景

対象患者 79 人の平均年齢は 40.7 ± 9.4 歳で、男性は 54 人であった。日本脳炎ワクチンの過去の接種歴は接種あり群 13 人、問診群 37 人、不明群 29 人であった。接種あり群における接種回数は、3 回以上は 8 人、2 回以下は 5 人であった。

ワクチン接種前の中和抗体保有状況は陰性者が 38 人に対し、陽性者が 41 人であった。両群における、年齢、性別、ワクチン接種歴、接種歴が文書で確認できた際のワクチン接種回数を比較したところ、年齢に関して抗体陰性群が 42.8 ± 8.5 歳と抗体陽性群が 38.7 ± 10.0 歳と有意差 ($p=0.02$) を認めた。(表 1) 以上より、接種前の抗体保有について、年齢との関連が示唆された。

2) ベロ細胞由来日本脳炎ワクチン単回接種による効果

全対象 79 人のワクチン接種前抗体陽性率は 51.9% (41/79 人) であり、ワクチン接種後の抗体陽性率は 93.7% (74/79 人) であった。接種前抗体陰性者 38 人のうち 33 人が陽転化しており、抗体陽転率は 86.8% であった。また、抗体陽性者 41 人における抗体上昇効果をみた 4 倍以上の抗体上昇は 26 人で認められ、接種前抗体陽性者 63.4% で認められた。

全体における接種前 GMT が 14.7 であったことに対し、接種後 GMT は 70.1 であり、GMFR は 4.76 であった。以上より、ベロ細胞ワクチンにおける単回接種

の効果は認められたと考えられる。(表 2)

3) 接種前抗体保有と接種後抗体陽性者における背景の比較

接種前抗体陰性者 38 人のうち、陽転化した群（陽転化群）が 33 人、陰性のままであった群（非陽転化群）が 5 人であった。両群における、年齢、性別、ワクチン接種歴、接種歴が文書で確認できた際のワクチン接種回数を比較したところ、いずれも有意差を認めなかった。(表 3)

また、接種前抗体陽性者 41 人のうち、接種後に抗体が 4 倍以上に上昇した人（上昇群）は 26 人に対し、上昇しなかった人（非上昇群）が 15 人であった。両群における、年齢、男性の比率、ワクチン接種歴、接種歴が文書で確認できた際のワクチン接種回数を比較したところ、いずれにおいても有意差を認めなかった。(表 3) 本解析では、抗体陽性化および上昇における要因は明らかにできなかった。

4) 接種歴におけるワクチン効果の比較

今回の接種以前のワクチン接種歴による、ワクチン効果の比較を検討するために、接種あり群 13 人、問診群 37 人、不明群 29 人において、年齢、性別、接種前抗体陽性率、接種後抗体陽性率、抗体陽転率、接種前 GNT、接種後 GMT、GMFR、接種前抗体陽性者における接種後抗体価が 4 倍以上上昇した率について検討を行った。結果として、年齢において有意差を認めたものの ($p < 0.01$)、それ以外の項目については有意差を認めなかった。(表 4) ワクチン接種歴に関

しては、抗体変化との関連性は明らかとできなかった。

5) 年齢におけるワクチン効果の比較

年齢群におけるワクチン効果の比較を行うために、40 歳未満群 36 人と 40 歳以上群 43 人において、年齢、性別、接種前抗体陽性率、接種後抗体陽性率、抗体陽転率、接種前 GMT、接種後 GMT、GMFR、接種前抗体陽性者における接種後抗体価が 4 倍以上上昇した率について検討を行った。結果として、年齢は 40 歳未満群で 32.6 ± 4.4 歳、40 歳以上群で 47.5 ± 6.8 歳であり、性別は 40 歳未満群で 20/16 (男/女) 人、40 歳以上群で 34/9 (男/女) 人 ($p=0.03$)、抗体陽転率は 40 歳未満群 69.2%、40 歳以上群 96.0% ($p=0.04$)、接種前 GMT は 40 歳未満群 22.0、40 歳以上群 10.5 ($p=0.02$)、接種後 GMT は 40 歳未満群 129、40 歳以上群 42.0 ($p=0.006$) と有意差を認めた。

本解析による結果では、40 歳未満群で、GMT は接種前、接種後いずれも高いものの、抗体陽転率で 40 歳以上群が有意に高いことが示された。(表 5) 特に、接種前抗体陰性者を対象に 40 歳未満群と 40 歳以上群で比較したところ、性別では 40 歳以上群で男性が有意に多く、抗体陽転率は 40 歳以上で有意に高かった。

年齢に加えて、ワクチン接種歴の関連性を評価するため、年齢群ごとに接種あり群、問診群、不明群の 3 群間で、年齢、性別、接種前抗体陽性率、接種後抗体陽性率、抗体陽転率、接種前 GMT、接種後 GMT、GMFR、接種前抗体陽性者における接種後抗体価が 4 倍以上上昇した率について検討を行った。40 歳未満

群で GMFR について、接種あり群が 8、問診群が 3.46、不明群が 16 と有意差を認めた ($p=0.008$) が、他の検討においては有意差を認めなかった。また、40 歳未満群で、抗体陽転率は接種あり群は 4 人全員が陽転化し、不明群の 1 人も陽転化し、100%であったものの、問診群は 8 人のうち 4 人のみが陽転化した。40 歳以上群では、ワクチン接種歴の各群間の統計学的な有意差は認められなかったが、1 人を除いた 24 人で抗体陽転化を認めた。(表 6A, B)

なお、今回検討した、79 人の年齢、接種前後の中和抗体、接種歴に関する一覧を提示する。(表 7)

6. 考察

1) 成人における日本脳炎抗体保有状況および、ワクチン接種状況

本研究のワクチン接種前における抗体保有状況は、抗体陽性群が 38.7 歳、陰性群が 42.8 歳であることや、40 歳未満群で接種前抗体陽性率が 63.9%、40 歳以上で 41.9%と、国立感染症研究所の 2011 年度日本脳炎感受性調査による年齢/年齢群別調査の 25-29 歳約 80%、30-34 歳 50%、35-39 歳 40%台前半、40-45 歳 40%台前半、45-59 歳 30%以下と矛盾しない範囲であり、対象人数は少ないが日本脳炎に対する抗体保有が特殊な集団ではないと考えられる¹⁴⁾。60 歳以上では、抗体価は 30%以上が陽性であり、70 歳以上では抗体陽性率は 50%を超えているが、本研究では 60 歳以上は 2 人が含まれている。一般に、ワクチン接種によって得られた抗体価は接種からの時間経過とともに、効果が減衰するとされている。日本脳炎も Abe らによって行われた日本脳炎ワクチン 2 期接種後の中和抗体持続期間に関する random coefficient モデルによる減衰の計算では、5 年後に 82%、10 年後に 53%、15 年後に 18%へと抗体陽性率が低下するとされており、ワクチン効果の影響だけを考慮すると本来は更に低下すると想定される 50 歳代以降に再度抗体陽性率が上昇していることはほかの要因による影響が考えられる²⁹⁾。原因として考えられることは、既感染による影響や日本脳炎ワクチン接種状況の違いによる影響が挙げられる。特に、日本脳炎は不顕性感染が多く、1966 年以前は年間 1000 例以上の報告があったことを考慮すると、20-30 歳代と比較すると、60 歳以上の抗体価が上昇しているこ

とへの関連性が考えられる^{2) 3) 24)}。また、ワクチン接種による抗体上昇についての影響であるが、日本脳炎ワクチンは1954年から1976年に定期接種が導入されるまでを勧奨接種とされていた。定期接種以前の接種方法は初回免疫を7-10日の間隔で2回接種し、追加免疫は初回免疫が完了している場合は、流行初期に1回接種を行うとされていた。とくに、地域によって3-4年間隔や隔年、毎年と流行にあわせて実施回数は異なっていたとされる^{30) 31) 32) 33)}。1976年以降に出生した対象者は1歳からが接種対象で、3歳に接種することが多いことを考慮すると、本研究における36-38歳より若年は定期接種対象であると推定される。しかし、2011年度日本脳炎感受性調査による年齢/年齢群別調査では、18歳まではワクチン接種歴不明者は20%以下であるものの、20歳以降では40%以上でワクチン接種歴が不明であり、本研究でも接種歴不明者は12人で全体の36.4%は不明であった¹⁴⁾。特に接種回数を含めた文書による確認ができた割合は25-39歳で27.8%、40歳以上群で7.0%であったが、2011年度日本脳炎感受性調査による年齢/年齢群別調査では、接種回数が確認できている割合は25-29歳20%弱、30歳代10%前後、40歳以上10%以下であり、本研究は対象者数が十分ではないものの、20歳代、30歳代については厚生労働省における調査に比べ、ワクチン接種歴の文書による確認がより高い割合でできたと考えられる¹⁴⁾。

本研究では、中和抗体の陽性基準を10倍以上とした。一般に、中和抗体は10倍以上で免疫防御レベルとして受容されるとされており、ワクチン効果においてこの基準が使用されている⁴⁾。本研究の対象は、過去のワクチンによる抗

体上昇と自然感染による抗体上昇が混在していると考えられるが、両者を区別することは困難であり、ワクチン効果で用いられている基準を採用した。

2) ペロ細胞由来日本脳炎ワクチンにおける効果

本研究で行った検討では、接種前抗体陽性率 51.9% でペロ細胞由来日本脳炎ワクチン単回接種後抗体陽性率は 93.7% であり、抗体陽転率は 86.8% であった。ほかの種類のペロ細胞由来日本脳炎ワクチンでの検討であるが、事前にマウス脳由来日本脳炎ワクチンによる接種を行った群では、接種前抗体陽性率が約 70% に対して 100% となっている^{22) 23)}。一方、これまでに日本脳炎ワクチン未接種群においては、単回の日本脳炎ワクチン接種後抗体陽性率は約 40% であった^{22) 23)}。本研究の結果では接種あり群ではワクチン接種後の抗体陽性率は 100% (13/13)、抗体陽転率は 100% (6/6) 問診群では抗体陽性率は 83.8% (31/37)、抗体陽転率は 78.9% (15/19)、不明群では抗体陽性率は 96.6% (28/29)、抗体陽転率は 92.3% (12/13) であり、いずれの群もワクチン未接種群に対する効果より高い。前述の報告で使用されている海外で承認使用されている水酸化アルミニウムをアジュバントとした IC51、本研究で使用したペロ細胞由来日本脳炎ワクチンのいずれも、マウス脳由来日本脳炎ワクチンと比較研究が行われており、同等の免疫効果があるとされている^{17) 34)}。以上より、本研究では接種あり群に対しての有効性だけでなく、問診群や不明群でも、効果が得られたと考えられる。特筆すべき点は、前述の日本脳炎ウイルス非活動地域におけるワクチン非接種者のワクチン効果と比較して接種後抗体陽性率が高

い。このことは、成人日本人における日本脳炎ウイルスに対する背景が異なることを改めて示唆する。

3) 年齢、ワクチン接種歴におけるワクチン効果の影響

通常の診療において、ワクチン接種希望者に対して、事前に得られる情報は年齢、ワクチン接種歴であり、中和抗体は研究目的以外で通常検査することができない。このような背景からワクチン効果に関連があると考えられた、年齢およびワクチン接種歴に関する検討を行った。ワクチン接種歴については、文書で確認することが望ましいが、全例では確認できず、文書で確認できた群（接種あり群）と、問診によって確認した群（問診群）、接種歴が確認できないおよび不明である群（不明群）で検討を行ったが、年齢以外の項目で有意差は認めなかった。本研究では、接種歴を確認した方法の多くが、母子手帳の接種記録からであった。しかし、母子手帳の保管の問題だけでなく、定期接種以前は母子手帳に日本脳炎ワクチン接種記載欄がないことなど、記録上の問題とも関連があると考えられる。

また、ワクチン接種歴不明群においても、状況が異なっている。定期接種開始前は当初、毎年5、6月に接種を施行し、地域によっては接種間隔を3-4年程度まであけるように徐々に変更されていったとされており、ワクチン接種回数も大きく異なる可能性がある³³⁾。定期接種導入以降は最大回数が5回であるため、一概にワクチン接種の既往といっても大きく異なる可能性がある。このような背景からも年齢による影響について、定期接種導入前後の世代間の評価

として、25-39 歳と 40 歳以上について比較を行ったところ、接種前 GMT、接種後 GMT は 40 歳未満群で有意に高く、抗体陽転率は 40 歳以上群で有意に高かった。また、接種前の抗体陽性率は 40 歳未満群が 63.9%に対して、40 歳以上群が 41.9%と両群で有意ではないものの、40 歳未満群で高い傾向が認められた。このことは、40 歳未満群ではワクチン接種に対して、力価としての反応は 40 歳以上群と比較して高いが、抗体陰性者が陽転化する割合は 40 歳以上群と比較して低かったと考えられる。つまり、ワクチンを頻回に接種し、日本脳炎の症例数も多かった時期に幼少期を過ごしたことで、ワクチンまたは感染によって免疫を獲得する可能性が高かった 40 歳以上群と、日本脳炎の症例数減少から感染によって免疫を獲得する機会が減少し、定期接種でワクチンを接種して免疫を獲得することが多い 40 歳以下群における抗体陰性の要因は異なると考えられる^{2) 33)}。年齢群別に、ワクチン接種歴の背景ごとに比較したところ、40 歳未満群における GMFR のみが有意差を認めたが、各群の人数も少なく、関連される接種後 GMT や接種後抗体陽性率、抗体陽転率では有意差を認めず、評価が難しい。しかし、40 歳未満群における接種あり群の抗体陽転率が 100%であり、40 歳以上群の 25 人中 24 人が陽転化したことは特筆すべきことである。

以上の結果から、40 歳以上群は 40 歳未満群と比較して、単回接種で抗体価が低いものの抗体陽転率が高く、短期間の予防効果としては効果が期待できる。一方、40 歳未満群では単回接種でワクチンによるブースター効果が得られる人は高い力価を得ることができるが、抗体陰性者については陽転率が十分ではない。とくに、25-39 歳におけるワクチン接種歴が文書で確認できた人はブース

ター効果を得ることができることが想定できる一方、文書で接種歴が確認できなかった問診群と不明群を合計すると、9人中4人は抗体陽転しなかったことから、定期接種歴を確認して、接種していない場合は基礎接種として行うことが検討される。本研究における、40歳前後における反応の違いがあることは、定期接種開始前後の世代における違いと考えられる。

4) 本研究の限界

前述のように、日本における日本脳炎ワクチンの検討ではワクチンの接種歴は重要な要因であると考えられる。しかしながら、国内におけるワクチン接種歴が確認できる方法は、母子手帳による確認以外に確実な接種歴の確認ができない。母子手帳については、紛失、記載漏れなどの影響で、本研究においても確認できた人数は13人と全体の16.5%に留まった。特に、母子手帳は幼少期のワクチン接種記録であるため、接種記録は年齢が高い群で多くは正確に把握できず、年齢が高い群ほど実際の接種状況を反映できていないことは本研究の限界と考えられる。

また、日本が近年日本脳炎患者の報告数が少ないものの日本脳炎ウイルス活動地域であり、ワクチン以外に不顕性感染による抗体上昇の可能性がある中で、ワクチンと感染による抗体上昇の区別が難しいことが挙げられる。近年、NS-1抗体検査による日本脳炎ウイルスによる感染と、ワクチンによる抗体上昇を区別して感染に伴う場合のみを陽性として検出する検査も開発されている³⁵⁾。しかし、陽性持続期間は約4年とされており、過去の感染を区別することはで

きないと考えられる³⁵⁾。本研究において、40 歳以上群では、抗体陽転率は高いものの、抗体陽性の基準とした 10 倍にとどまるものが少なかった。中和抗体 10 倍は、予防効果としては十分である基準とされているが、免疫学的な記憶がある場合、抗体価の上昇が更に高くなることも想定された。しかし、前述のように免疫獲得の理由が判別できないことや、ワクチン接種の具体的な回数とその後の抗体価の測定は行われていないため、ワクチン接種後の中和抗体上昇に関する程度の違いについては、本研究では限界があり、更なる研究が望まれる。

また、日本脳炎の流行分布はこれまでの報告で国内において地域差があるとされている²⁾。一方、ワクチン接種していない小児を対象とした研究では、東京都内と熊本で中和抗体保有率に差がないとする報告もある^{36) 38)}。既感染を含めた影響を考慮するためには、本研究では、対象数が少ないため、地域性を考慮した多施設によるより大きな規模による対象数を多くした検討が必要と考えられる。

5) 本研究より若年の世代について

本研究は、中山株のマウス脳由来日本脳炎ワクチンを対象とした 25 歳以上の研究である。25 歳未満は北京株によるマウス脳由来日本脳炎ワクチンを使用しているが、特に、2005 年、2006 年と積極勧奨を見合わせた期間では、接種率が同じ第 1 期でも 22.1%、4.0%と低下している¹⁶⁾。また、ベロ細胞由来日本脳炎ワクチンは、2010 年 4 月から定期接種として積極勧奨が再開された後の、

2009 年の生後 76 か月における累積接種率は第 1 期 2 回接種の段階で 15.5%、2010 年の調査で 30.6%と低い水準にあり、今後は今回の調査以上に抗体保有率が低い可能性が予想される³⁷⁾。したがって、本研究と同様に、ワクチン接種歴の確認は重要と考えられる。

7. 結語

本研究の結果、ペロ細胞由来日本脳炎ワクチンを追加接種することで、一定の抗体上昇効果を得られることが分かった。接種前抗体陰性群において、ワクチン接種後の陽転群と非陽転群において年齢、性別、ワクチン接種歴では特に有意差を認めなかった。年齢群別の比較では、定期接種開始以前の世代である40歳以上群では1回の追加接種で抗体上昇の力価は低いものの抗体陽転化が高い割合で認められた。特に、抗体陰性群における年齢群別の比較では、抗体陽転率が40歳以上で有意に高かった。一方、定期接種開始以降の世代である40歳未満群では、抗体上昇の力価は高いもの、陽転化は40歳以上群よりは低い傾向が認められた。40歳未満群では、文書でワクチン接種歴を確認された場合は1回の追加接種で100%抗体陽転化が確認できたが、文書で確認できない場合は、55.6%の抗体陽転率であり、基礎接種からの実施を含めた複数回の接種が望まれる。

参考文献

1. Halstead SB, Jacobson J: Japanese encephalitis vaccines. ed Plotkin S.A and Orenstein W.A, In Vaccines. 5th ed, WB Saunders, Inc, Philadelphia, 2008;311–352
2. Arai S, Matsunaga Y, Takasaki T, et al: Japanese Encephalitis: Surveillance and Elimination Effort in Japan from 1982 to 2004. Jpn J Infect Dis 2008; 61: 333–338
3. National Institute of Infectious Diseases: Japanese encephalitis, Japan, 2003–2008. IASR 2009; 30: 147–148
4. World Health Organization: Japanese encephalitis vaccines. Wkly Epidemiol Rec 2006; 81: 331–340
5. Fischer M, Lindsey N, Staples JE , et al: Japanese Encephalitis Vaccines Recommendations of Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). MMWR 2010; 59/RR1: 1–27
6. Mackenzie JS, Gubler DJ, Petersen LR: Emerging flaviviruses: the spread and resurgence of Japanese encephalitis, West Nile and dengue viruses. Nat Med 2004; 10:S98–109
7. Hills SL, Griggs AC, Fischer M: Japanese encephalitis in travelers from non-endemic countries, 1973–2008. Am J Trop Med Hyg 2010; 82: 930–936

8. Langevin S, Libman M, Drebot MA, et al: A case of Japanese encephalitis virus infection acquired during a trip in Thailand. J Travel Med 2012; 19: 127-129
9. Werlinrud AM, Christiansen CB, Koch A: Japanese encephalitis in a Danish short-term traveler to Cambodia. J Travel Med 2011; 18: 411-413
10. 日本渡航医学会海外渡航者のためのワクチンガイドライン 2010 作成委員会: 日本脳炎ワクチン. 海外渡航者のためのワクチンガイドライン 2010. 協和企画, 東京, 2010; 29-32
11. 上村清: 日本脳炎媒介蚊の発生動態に関する研究. Med Entomol Zool 1998; 49: 181-185
12. 佐藤弘, 多屋馨子, 岡部信彦, 他: わが国のブタにおける日本脳炎に対する抗体保有状況 (感染症流行予測調査より). IASR 2009; 30: 51-152
13. 国立感染症研究所感染症情報センターウイルス第 1 部: ブタの日本脳炎 HI 抗体保有状況調査 - 2010 年速報第 17 報 (最終版) -. (http://idsc.nih.go.jp/yosoku/JE/2010JESw/JE10_17.html) 2012 年 6 月 10 日アクセス
14. 国立感染症研究所: 感染症流行予測調査グラフ. (<http://www.nih.go.jp/niid/ja/2011-05-25-09-12-42/667-yosoku-graph.html>) 2012 年 6 月 11 日アクセス
15. 厚生省: 厚生白書 (昭和 43 年度版) .

(<http://www.hakusyo.mhlw.go.jp/wpdocs/hpaz196801/b0030.html>) 2012 年
6 月 12 日アクセス

16. 多屋馨子, 佐藤 弘, 新井 智, 他.: ヒトの日本脳炎中和抗体保有状況ならびに日本脳炎ワクチン接種状況. IASR 2009; 30: 149-151
17. Kikukawa A, Gomi Y, Akechi M, et al: Superior immunogenicity of a freeze-dried, cell culture-derived Japanese encephalitis vaccine(inactivated). Vaccine 2012; 30: 2329-35
18. Ohtaki E, Martsuishi T, Hirano Y, et al: Acute disseminated encephalomyelitis after treatment with Japanese B encephalitis vaccine (Nakayama-Yoken and Bijing strains). J Neurol Neurosurg Psychiatry 1995; 59: 316-317
19. Ohtaki E, Murakami Y, Komori H, et al: Acute disseminated encephalomyelitis after Japanese B encephalitis vaccination. Pediatr Neurol 1992; 8: 137-139
20. World Health Organization: Mouse brain-derived Japanese encephalitis vaccine. Wkly Epidemiol Rec 2005; 80: 242
21. Hills SL, Fischer M: Recommendations for Use of a booster Dose of Inactivated Vero Cell Culture-Derived Japanese Encephalitis Vaccine— Advisory Committee on Immunization Practices, 2011. MMWR 2011; 60: 661-663
22. Erra E, Askling HH, Rombo L, et al: A single dose of Vero cell-

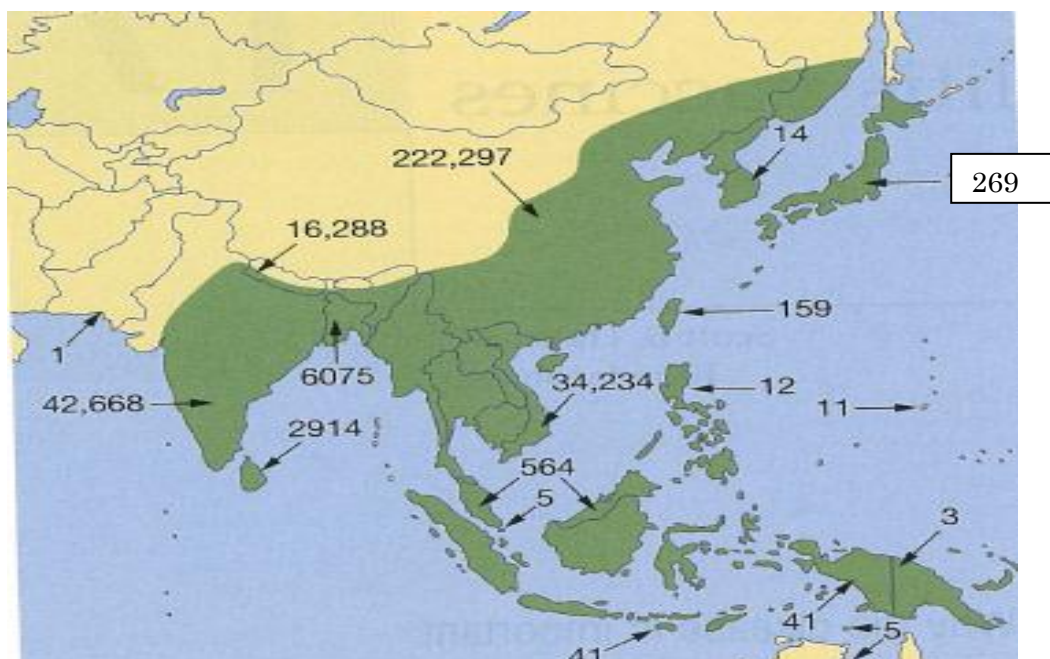
- derived Japanese encephalitis (JE) vaccine (Ixiaro®) effectively boosts immunity in travelers primed with mouse brain-derived JE vaccines. Clin Infect Dis 2012; 55: 825-34
23. Woolpert T, Staples JE, Faix DJ, et al: Immunogenicity of one dose of Vero cell culture-derived Japanese encephalitis (JE) vaccine in adults previously vaccinated with mouse brain-derived JE vaccine. Vaccine 2012; 30: 3090-3096
24. 坂本光弘, 林紀子, 中村芳美, 他: 特徴的なMRI画像を呈した日本脳炎の1例. 日内会誌 2011; 100: 2256-2258
25. Takahashi H, Pool V, Tsai TF, et al: Adverse events after Japanese encephalitis vaccination: review of post-marketing surveillance data from Japan and the United States. The VAERS Working Group. Vaccine 2000; 18: 2963-2969
26. Watanabe K, Hirokawa C, Kon M, et al: Estimation of focus reduction neutralization test for measurement of neutralizing antibody titer against Japanese encephalitis virus. Jpn J Infect Dis 2008; 61: 424-5
27. Okuno Y, Fukunaga T, Tadano M, et al: Rapid focus reduction neutralization test of Japanese encephalitis virus in microtiter system. Brief report. Arch Virol 1985; 86: 129-35
28. 国立感染症研究所ウイルス第一部第二室: PAP 法を応用したフォーカス計

測法による日本脳炎中和抗体価測定法[第六版], 2010

29. Abe M, Okada K, Hayashida K, et al: Duration of Neutralizing Antibody Titer after Japanese Encephalitis Vaccination. Microb Immunol 2007; 51: 609-616
30. 大谷明: 日本脳炎の予防接種. 小児科臨床 1964; 17: 32-40
31. 北岡正見: 日本脳炎ワクチンの現状と将来. 日本医事新報 1965; 2145: 3-7
32. 大谷明: 日本脳炎. 診断と治療 1972; 60: 1737-1742
33. 南谷幹夫, 篠崎立彦, 鳥居道子, 他: 日本脳炎ワクチンの新知見. 小児科臨床 1974; 27: 814-823
34. Kaltenbock A, Kastner KD, Schiller E, et al: Immunogenicity and safety of IXIARO® (IC51) in a Phase II study in healthy Indian children between 1 and 3 years of age. Vaccine 2010; 28: 834-839
35. 小西英二, 北井陽子: 日本脳炎ウイルス NS1 抗体の ELISA による測定: ヒト血清を対象とした基礎条件の確立. IASR 2009; 30:152-153
36. KonishiE, Kitai Y, Tabei Y, et al: Natural Japanese encephalitis virus infection among humans in west and east Japan shows the need to continue a vaccine program. Vaccine 2010; 28: 2664-2670
37. 高山直秀, 崎山弘, 岡部信彦, 他: 日本脳炎ワクチン第 I 期 1, 2 回目および追加接種の全国累積接種率: 2010 年の調査結果. 日医雑誌 2011; 140: 829-832

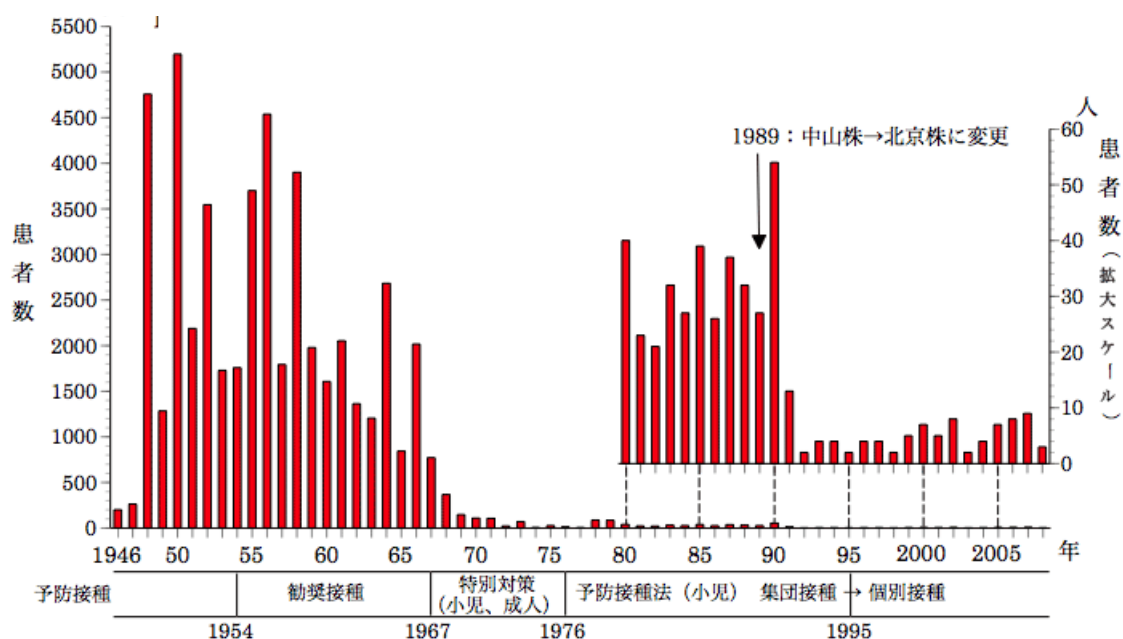
38. 田部井由紀子, 岩崎則子, 岡崎輝江, 他: 東京都民における日本脳炎ウイルスの NS1 抗体保有状況. IASR 2009; 30:154-155
39. Kuzuhara S, Nakayama H, Hayashida K, et al: Non-clinical and phase I clinical trial of a Vero cell-derived inactivated Japanese encephalitis vaccine. Vaccine 2003; 21: 4519-4526

図 1. 日本脳炎流行地域



日本脳炎が土着していると考えられる地域を緑色示す。矢印の数字は 1986 年～2000 年の報告数であるが、中国、インド、ネパール、スリランカ、タイ、ベトナムは 2001 年～2005 年の情報を追加した報告数である。なお、日本の 1986 年～2008 年までの報告数は 269 件の報告がある。(文献 1 より引用し、文献 2, 3 より改変)

図2. 1946－2008年における日本脳炎の症例数と予防接種方式の変遷



本邦における日本脳炎の症例数の推移を示す。また、1980年以降は症例数が著明に減少しており、右上の別表を用いて詳細を示す。予防接種は1954年に承認され、1967年までが勧奨接種、1967～1976年までが特別対策、1976年以降が予防接種法により実施された。また、1989年に日本脳炎ワクチンの製造株が中山株から北京株へと変更となった。(文献3より、1946～1964年伝染病統計、1965～1998年伝染病流行予測調査、1999～2008年感染症発生動向調査)

表 1. ワクチン接種前の日本脳炎中和抗体陽性群と陰性群における背景

	計 (n=79)	JE NT-Ab 陰性 (n=38)	JE NT-Ab 陽性 (n=41)	p 値*
年齢 (平均 ±SD)	40.7 ±9.4	42.8 ±8.5	38.7 ±10.0	0.02**
男性 /女性	54/25	27 /11	27/14	0.64
接種あり群 ^a	13	6	7	1.00
問診群 ^b	37	19	18	0.66
不明群 ^c	29	13	16	0.82
これまでの日本脳炎ワクチン 接種回数 (記録で確認)				
3 回以上	8	4	4	1.00
2 回以下	5	2	3	1.00

^a 母子手帳などの記録によって接種歴を確認した群.

^b 文書による確認はできず問診によってのみ接種歴を確認した群.

^c これまでの接種歴がない、または不明である群.

*Fisher 検定によって p 値算出.

** Manh-Whitney 検定によって p 値算出.

表 2. ワクチン接種前後の効果

	計 (n=79)
接種前抗体陽性率 (n)	51.9% (41/79)
接種後抗体陽性率 (n)	93.7% (74/79)
抗体陽転率	86.8% (33/38)
接種前-幾何平均抗体価 (CI)	14.7 (10.9-19.9)
接種後-幾何平均抗体価 (CI)	70.1 (47.6-103)
幾何平均抗体上昇比 (CI)	4.76 (3.76-6.06)
4 倍以上の抗体上昇数 (%)	26/41 (63.4%)

表 3. 中和抗体陰性群におけるワクチン接種後の中和抗体陽転化の比較および、中和抗体陽性群における中和抗体価4倍以上上昇の比較

	接種前中和抗体陰性群			接種前中和抗体陽性群		
	接種後 陽転群 (n=33)	接種後 非陽転群 (n=5)	p 値	中和抗体 4 倍以上上昇 (n=26)	中和抗体 4 倍 以上上昇せず (n=15)	p 値
年齢 (平均 ±SD)	43.6 ±1.46	37.6 ±7.53	0.12**	37.6 ±10.8	40.5 ±8.26	0.13**
男性 /女性	23/10	4/1	0.55	17/9	10/5	0.61
接種あり群 ^a	6	0	0.57	5	2	1.00
問診群 ^b	15	4	0.34	12	6	0.75
不明群 ^c	12	1	0.64	9	7	0.52
これまでの日本脳 炎ワクチン接種回 数 (記録で確認)						
3 回以上	4	0	1.00	4	0	0.28
2 回以下	2	0	1.00	1	2	0.54

^a 母子手帳などの記録によって接種歴を確認した群.

^b 文書による確認はできず問診によってのみ接種歴を確認した群.

^c これまでの接種歴がない、または不明である群.

* Fisher 検定によって p 値算出.

** Manh-Whitney 検定によって p 値算出.

表 4. 以前の接種歴による比較

	計 (n=79)	接種あり群 ^a (n=13)	問診群 ^b (n=37)	不明群 ^c (n=29)	P値
年齢 (平均 ±SD)	40.7±9.4	34.6±2.87	39±1.19	45.6±1.76	<0.01**
男性/女性	54/25	8/5	23/14	23/6	0.280*
接種前抗体陽性率 (n)	51.9% (41/79)	53.8% (7/13)	48.6% (18/37)	55.2% (16/29)	0.860*
接種後抗体陽性率 (n)	93.7% (74/79)	100% (13/13)	83.8% (31/37)	96.6% (28/29)	0.281*
抗体陽転率	86.8% (33/38)	100% (6/6)	78.9% (15/19)	92.3% (12/13)	0.319
接種前-幾何平均抗体価 (CI)	14.7 (10.9-19.9)	19.0 (7.26-49.6)	14.8 (9.14-23.9)	13.0 (8.45-20.0)	0.853**
接種後-幾何平均抗体価 (CI)	70.1 (47.6-103)	151.4 (46.6-492)	60.2 (32.7-111)	59.8 (34.8-20.0)	0.313**
幾何平均抗体上昇比 (CI)	4.76 (3.76-6.06)	8 (4.23-15.1)	4.08 (2.89-5.78)	4.63 (3.07-6.92)	0.140**
4倍以上の抗体上昇率 (n)	63.4% (26/41)	71.4% (5/7)	66.7% (12/18)	56.3% (9/16)	0.730*

^a 母子手帳などの記録によって接種歴を確認した群.

^b 文書による確認はできず問診によってのみ接種歴を確認した群.

^c これまでの接種歴がない、または不明である群.

* χ^2 乗検定によって p 値算出.

** Kruskal-Wallis 検定によって p 値算出

表 5. 年齢群におけるワクチン接種の比較

	25-39 歳 (n=36)	40 歳以上 (n=43)	p 値
年齢 (平均 ±SD)	32.6 ±4.4	47.5 ±6.8	
男性/女性	20/16	34/9	0.02*
接種前抗体陽性率 (n)	63.9% (23/36)	41.9% (18/43)	0.07*
接種後抗体陽性率 (n)	88.9% (32/36)	97.7% (42/43)	0.17*
抗体陽転率 (n)	69.2% (9/13)	96.0% (24/25)	0.04*
接種前-幾何平均抗 体価 (CI)	22.0 (13.1-37.1)	10.5 (7.52-14.7)	0.02**
接種後-幾何平均抗 体価 (CI)	129 (67.3-249)	42.0 (27.7-63.6)	0.006**
幾何平均抗体上昇 比 (CI)	5.90 (3.97-8.69)	4.00 (2.99-5.35)	0.13**
4 倍以上の抗体上 昇率 (n)	73.9% (17/23)	50.0% (9/18)	0.19*

* Fisher検定によってp値算出.

** Manh-Whitney 検定によって p 値算出.

表 6A. 年齢群による以前の接種歴による比較 (25-39歳)

	計 (n=36)	接種あり群 ^a (n=10)	問診群 ^b (n=19)	不明群 ^c (n=7)	p 値
年齢 (平均 ±SD)	32.6 ±0.729	30.1±1.21	33.5±1.02	33.4±1.56	0.11**
男性/女性	20/16	6/4	9/10	5/2	0.519*
接種前抗体陽性率 (n)	63.9% (23/36)	60.0% (6/10)	57.9% (11/19)	85.7% (6/7)	0.405*
接種後抗体陽性率 (n)	88.9% (32/36)	100% (10/10)	78.9% (15/19)	100% (7/7)	0.134*
抗体陽転率	69.2% (9/13)	100% (4/4)	50.0% (4/8)	100% (1/1)	0.164*
接種前-幾何平均抗体価 (CI)	22.0 (13.1-37.1)	21.4 (6.60-69.6)	25.8 (11.2-59.4)	14.9 (7.90-27.7)	0.924**
接種後-幾何平均抗体価 (CI)	129 (67.3-249)	170 (49.2-610)	89.4 (30.1-265)	238 (105-538)	0.572**
幾何平均抗体上昇比 (CI)	5.90 (3.97-8.69)	8 (3.81-16.8)	3.46 (2.04-5.86)	16 (8.46-30.3)	0.008 **
4 倍以上の抗体上昇数 (%)	17/23 (73.9%)	4/6 (66.7%)	7/11 (63.6%)	6/6 (100%)	0.237*

^a 母子手帳などの記録によって接種歴を確認した群.

^b 文書による確認はできず問診によってのみ接種歴を確認した群.

^c これまでの接種歴がない、または不明である群.

* χ^2 乗検定によって p 値算出.

** Kruskal-Wallis 検定によって p 値算出

表 6B. 年齢群による以前の接種歴による比較（40歳以上）

	計 (n=43)	接種あり群 ^a (n=3)	問診群 ^b (n=18)	不明群 ^c (n=22)	p 値
年齢（平均 ±SD）	47.5 ±1.03	49. ±6.77	44.8±1.07	49.4±1.52	0.113**
男性/女性	34/9	2/1	14/4	18/4	0.820*
接種前抗体陽性率（n）	41.9% (18/43)	33.3%（1/3）	38.9%（7/18）	45.5% (10/22)	0.873*
接種後抗体陽性率（n）	97.7% (42/43)	100%（3/3）	100%（18/18）	95.5%（21/22）	0.613*
抗体陽転率	96.0% (24/25)	100%（2/2）	100.0%（11/11）	91.7%（11/12）	0.569*
接種前-幾何平均抗体価 （CI）	10.5 (7.52-14.7)	12.6 (0.2-104)	8.2 (5.7-11.9)	12.5 (7.1-21.7)	0.720**
接種後-幾何平均抗体価 （CI）	42.0 (27.7-63.6)	101 (0.1-133079:NA)	40 (22.3-71.6)	38.6 (21.9-68.7)	0.938**
幾何平均抗体上昇比 （CI）	4.00 (2.99-5.35)	8 (0.255-251)	4.86 (2.99-7.89)	3.12 (2.14-4.53)	0.200**
4 倍以上の抗体上昇率 （n）	50%（9/18）	100%（1/1）	71.4%（5/7）	30%（3/10）	0.143*

^a 母子手帳などの記録によって接種歴を確認した群.

^b 文書による確認はできず問診によってのみ接種歴を確認した群.

^c これまでの接種歴がない、または不明である群.

* χ^2 乗検定によって p 値算出.

** Kruskal-Wallis 検定によって p 値算出

表 7. 全参加者の抗体変化

	年齢	性別	中和抗体		接種記録			接種回数
			接種前	接種後	不明およびなし	記録あり	問診のみ	
1	25	F	160	640			○	
2	26	F	640	1280		○		1
3	26	F	<10	160		○		3
4	27	M	10	160	○			
5	27	M	80	1280		○		3
6	27	M	160	320			○	
7	28	M	<10	20		○		3
8	28	F	20	160			○	
9	29	M	40	640	○			
10	29	M	20	320		○		3
11	29	F	80	160			○	
12	30	F	80	2560		○		3
13	30	M	40	640			○	
14	31	M	<10	<10			○	
15	31	F	<10	40		○		3
16	31	F	20	640			○	
17	32	M	<10	20		○		1
18	32	F	80	320			○	
19	33	F	<10	<10			○	
20	33	M	20	320	○			
21	34	M	10	80		○		3
22	34	M	<10	10			○	
23	34	F	10	320	○			
24	35	M	<10	<10			○	
25	35	M	80	2560			○	
26	36	M	20	80	○			
27	37	F	<10	10			○	
28	37	F	<10	40			○	
29	37	M	20	640	○			
30	38	M	40	80		○		1
31	38	F	<10	80	○			
32	38	F	1280	2560			○	
33	38	M	320	1280			○	
34	39	M	<10	<10			○	
35	39	F	<10	20			○	
36	39	M	20	40			○	
37	40	M	10	80			○	
38	40	M	<10	160			○	
39	40	M	40	160			○	
40	40	M	<10	40	○			
41	41	M	20	40			○	
42	41	F	40	80			○	
43	41	M	<10	40		○		2
44	41	M	<10	10	○			
45	42	M	<10	20			○	
46	42	F	<10	10			○	
47	42	F	<10	80			○	

48	42	M	320	640	○			
49	43	F	40	160	○			
50	43	M	<10	10			○	
51	43	M	40	160	○			
52	44	F	10	20	○			
53	44	M	10	80			○	
54	45	M	<10	10		○		3
55	45	M	20	40	○			
56	45	M	<10	10	○			
57	46	M	<10	10			○	
58	46	M	40	80	○			
59	46	M	<10	20	○			
60	46	M	20	40	○			
61	46	M	10	40			○	
62	47	F	<10	80	○			
63	47	M	<10	10			○	
64	47	F	<10	80			○	
65	48	M	<10	80			○	
66	49	M	<10	10			○	
67	50	M	<10	10	○			
68	50	M	<10	<10	○			
69	51	M	160	160	○			
70	51	M	<10	10			○	
71	54	M	<10	10	○			
72	55	M	40	80	○			
73	56	M	<10	40	○			
74	57	M	20	320			○	
75	58	M	<10	20	○			
76	59	M	<10	10	○			
77	59	M	<10	20	○			
78	63	F	80	2560		○		1
79	67	F	10	320	○			